

만성신부전증 환자의 객담에서 분리한 *Staphylococcus aureus*, Small Colony Variants 1예

이혜수, 조용곤, 김달식, 최삼임

전북대학교 의과대학 진단검사의학교실, 의과학연구소

A case of Small Colony Variants (SCVs) of *Staphylococcus aureus* from Sputum of a Patient with Chronic Renal Failure

Hye Soo Lee, Yong Kohn Cho, Dal Sik Kim, and Sam Im Choi

Department of Laboratory Medicine, Chonbuk National University Medical School and Institute for Medical Science,
Jeonju, Korea

Recently, small colony variants (SCVs) of *Staphylococcus aureus* causing fatal infections are increasing, but rarely reported in Korea. *S. aureus*, SCVs are slow growing subpopulation that cause persistent and relapsing infections. *S. aureus*, SCVs are frequently auxotrophic for hemin, menadione, and CO₂, and are often disrupted in their electron transport activity. With *S. aureus*, SCVs virulence is altered by a decrease in α -toxin production and susceptibility to various antibiotics, allowing their intracellular survival. We isolated *S. aureus*, SCVs from the sputum of a 67 year old male with pneumonia, chronic renal failure with hemodialysis and preventive antibiotic therapy. Because *S. aureus*, SCVs are easily missed or misdiagnosed as normal flora in routine culture due to their atypical growth behavior and biochemical reaction, the correct identification is very important, especially when no bacteria or unusual bacteria are found in patients with persistent or relapsing infections with long term antibiotic therapy. (*Korean J Clin Microbiol* 2003;6(2):164-167)

Key words : *S. aureus*, Small colony variants, SCVs

서 론

Staphylococcus aureus, small colony variants(SCVs)는 정상적인 균주에 비하여 현저히 작은 집락을 형성하는 특정 생물형군(subpopulation)으로서, 항생제 투여에도 불구하고 지속성이고 재발성 감염을 일으키기 때문에 매우 중요한 감염체로 인식되고 있으나, 통상적인 배양조건에서는 균의 성장이 매우 느릴 뿐 아니라, 비용혈성이고 색소생성이 없으며, coagulase 시험이나 mannitol 시험에도 음성을 나타내기 때문에 특별한 관심을 갖지 않는 한 비병원성 세균으로 오인되어 부정확한 진단을 하기가 쉽다[1-3].

S. aureus, SCVs는 임상적으로 항생제를 장기간 투여하거나, 실험적으로 *S. aureus*에 고농도의 항생제를 노출시켰을 때, 전자전달사슬(electron transport chain)과 관련된 유전자의 돌연변이에 의하여 발생되며, 이로 인하여 위의 형태학적, 또는 생화학적 변화가 발현되는 것으로 알려져 있다[1-3].

S. aureus, SCVs는 탐식된 숙주세포 내에서 사멸되지 않고 그대로 정착되기 때문에 숙주의 방어능과 항생제의 공격에서 벗어나 숙주세포 내에 지속적으로 증식되어 만성 감염을 일으키고, 항생제 치료 후에도 재발되는 중증 감염을 일으킨다. 최근 여러 나라에서 관절염이나 폐렴 등 여러 가지 감염증에서 *S. aureus*, SCVs가 분리되는 사례가 증가되고 있는데[3-10], 국내에서는 2000년에 방광 결석환자의 요 검체에서 처음으로 분리되어 보고되었으며, 이후로는 보고된 예가 없다[11]. 이에 저자들은 만성 신부전증으로 arteriovenous fistula (AVF) 수술 후 입원하여 혈액투석을 하던 중 폐렴이 발생한 67세 남자의 객담

접수번호 : CM 6-2-13

교신저자 : 이혜수

(561-712) 전북 전주시 덕진구 금암동 634-18

전북대학교 의과대학 진단검사의학교실

TEL : 063)250-1218 FAX : 063)250-1200

E-mail : leehs@moak.chonbuk.ac.kr

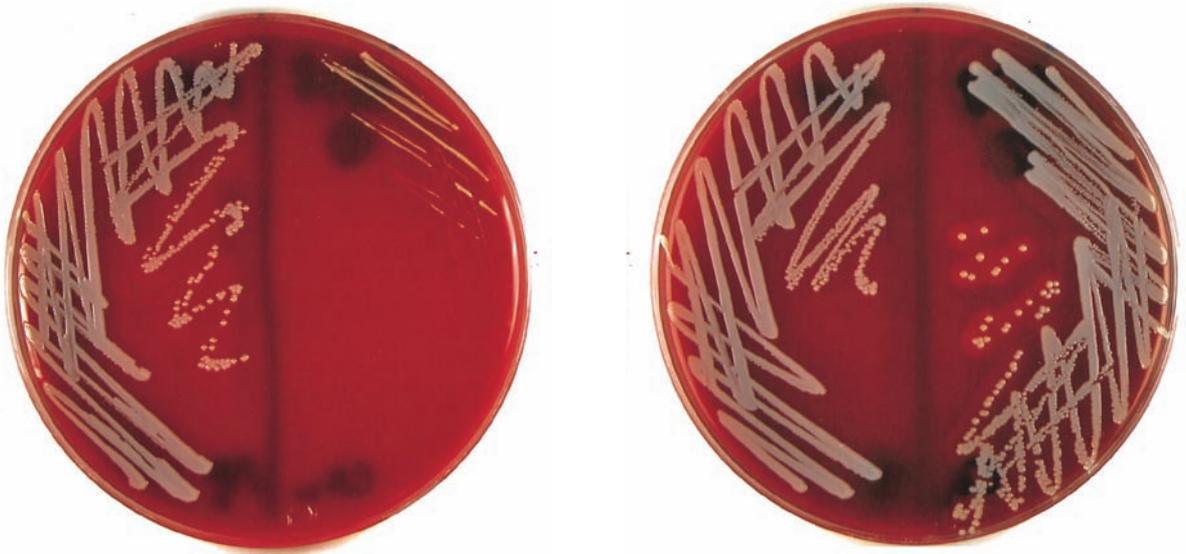


Fig. 1. Colonies of normal *S. aureus* (left of plate) and *S. aureus*, SCVs (right of plate) incubated on blood agar plate at 35 °C for 2 days in ambient air (left) and 5% CO₂ (right).

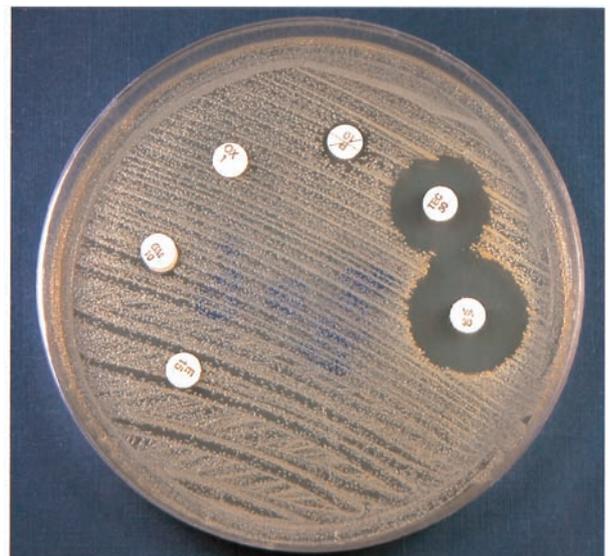
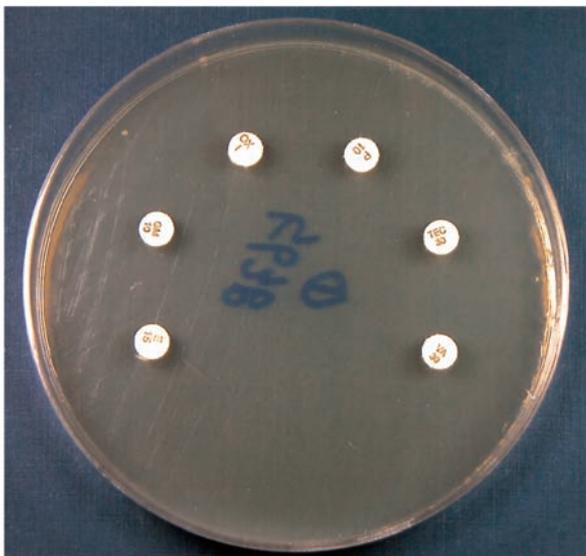


Fig. 2. Antimicrobial susceptibility test of with *S. aureus*, SCVs disk diffusion method on Mueller Hinton agar at 35 °C in ambient air (left) and 5% CO₂ (right).

에서 SCVs를 동정하였기에 보고하고자 한다.

증 례

환자는 고혈압과 당뇨로 인한 만성신부전증으로 AVF 수술 후 혈액투석을 위하여 입원한 67세 남자로, 일주일 동안 혈액투석 및 항생제(flomoxef) 투여를 실시하던 중 폐렴이 발생하였다. 첫번째 객담배양에서 *Acinetobacter baumannii*와 *Pseudomonas fluorescens*가 분리되었고 cefepime과 ciprofloxacin으로 항생제를 교체하여 투여하였으나, 열흘 후 다시 보낸 객담배양에서 *Candida tropi-*

*calis*와 *S. aureus*가 분리되어 항진균제를 첨가하여 투여하였다.

상기 *S. aureus*는 혈액한천배지에서 5% CO₂ 배양기에서 하룻밤 배양 결과 백색의, 용혈성 그람양성 구균이었으며, catalase, coagulase, mannitol salt 시험에 양성으로 Vitek GPI 카드(bioMarieux Vitek, USA)에서 *S. aureus* (bionumber; 7713730051)로 동정되었다. 그러나 항생제 감수성 검사 결과, Vitek GPS 카드에서 균 증식이 일어나지 않았고, 통상적인 공기배양(ambient air)에서 디스크 확산법으로 확인하였으나 역시 균 증식에 실패하였다. 이에 처음 자란 집락을 혈액한천배지에 재 접종하고 공

기배양과 5% CO₂배양을 동시에 시행한 결과, CO₂배양에서는 용혈성의 비교적 큰 집락이 관찰되었으나, 공기배양에서는 아주 작은 비용혈성의 집락을 관찰할 수 있었다(Fig. 1). 또한 5% CO₂배양으로 디스크 확산법에 의한 항생제 감수성 시험을 시행한 결과, 균의 증식 및 항생제 디스크 주위에서 억제대를 관찰할 수 있었으며(Fig. 2), 억제대 측정 결과 oxacillin, gentamicin, ciprofloxacin, erythromycin에는 내성을 rifampin, trimethoprim-sulfamethoxazole, teicoplanin, vancomycin에는 감수성을 보였다. 이상의 결과로 *S. aureus*, SCVs로 최종 동정하였다. 환자는 cefepime과 ciprofloxacin의 계속적인 투여로 증상이 호전되었으며 입원 한 달 후 퇴원하였다.

고 찰

S. aureus, SCVs는 hemin, menadione, CO₂등에 의존성(auxotrophic)인 특정생물형으로[1-3], 오래 전부터 알려져 있었으나, 임상적인 관심을 끌게 된 것은 1995년 Proctor 등이 지속적이고 반복적 감염을 일으킨 여러 명의 환자에서 *S. aureus*, SCVs를 분리하고 그 특성들에 대해서 보고한 후부터이다[3].

S. aureus, SCVs는 주로 aminoglycoside[12-14]나 trimethoprim-sulfamethoxazole[9]에 노출된 후 유발되나, fluoroquinolone[15]이나 clindamycin[10]과 같은 항생제에 의해서도 유발되었다는 보고가 있다

S. aureus, SCVs는 매우 작은 비용혈성, 비색소성의 'pinpoint'형 집락을 형성하고, coagulase나 mannitol 시험에 음성을 보이며, aminoglycoside에 내성을 보이는 등 정상 균주와는 현저히 다른 형태학적, 생화학적 특성을 보이는데[1-3], 이러한 특성들은 menadione이나 hemin의 생성에 관여하는 *men* 또는 *hem* 유전자의 돌연변이와 이에 따른 전자전달사슬요소(components of electron transport chain)의 합성저하와 관계가 있다[1, 16]. 즉, *men* 또는 *hem* 유전자의 돌연변이는 menadione이나 hemin의 생성을 억제하여 menaquinone과 cytochrome의 합성을 저해시키고, 이것은 각각 ATP 생산 감소에 의한 세포벽의 합성저해로 인한 세균의 성장저하 및 탄수화물 발효저하, carotenoid 합성 억제로 색소형성의 저하, electrochemical gradient의 저하로 aminoglycoside나 양이온 peptide의 uptake의 감소를 야기해, 작은 집락, 색소형성 결핍, mannitol 발효시험 음성, aminoglycoside 내성, α -독소의 약화 등 SCVs의 특징적인 소견들로 발현되는 것이다[1, 16].

또한 *S. aureus*, SCVs는 여러 가지 항생제에 대해서도 내성을 보이는 편으로, 그 원인으로는 여러 가지 인자를 생각할 수 있는데, 첫째, SCVs의 세포벽 합성이 활발하지 않아 세포벽 합성을 억제하는 항생제가 작용하기 어려우며, 둘째, SCVs의 electrochemical gradient 감소로 aminoglycoside나 양전하를 띤 항생제의 uptake가 잘 되지 않고, 셋째, SCVs가 숙주세포 내에 존재하므로 항생제가 균체

까지 효과적으로 도달하기가 어렵다는 것 등이다[1]. 따라서 숙주에 들어온 *S. aureus*, SCVs는 특유의 느린 성장 및 약화된 독성과 항생제 내성으로 인하여, 숙주세포에 의해서 탐식은 되지만 파괴되지는 않기 때문에 오랫동안 숙주세포 내에서 생존하면서 약제내성의, 지속적이고, 재발성인 만성감염을 일으키게 된다[1-11].

최근 다약제 내성균에 의한 감염 예가 증가되고 있고, *S. aureus* 이외의 다른 균종이나 균속에서도 SCVs가 분리되고 있어[17-19], 이 균주에 대한 관심이 높아지고 있다. 그러나 통상적인 배양방법으로는 *S. aureus*, SCVs를 비병원균으로 오인하거나 잘못 동정할 가능성이 있으므로 이에 대한 각별한 주의가 요망된다. 다행히 본 증례는 처음부터 검체를 5% CO₂에 배양하여 전형적인 *S. aureus*의 소견을 얻었기 때문에 병원균으로 분류하고 동정할 수 있었다. 따라서 지속적이고 재발이 잦은 감염환자의 검체는 임상에서나 검사실에서 SCVs감염의 가능성을 고려하여 합당한 조치를 취하여야 효과적인 치료지침을 세울 것으로 생각된다.

요 약

Staphylococcus aureus, small colony variants(이하 SCVs)는 고농도의 항균제에 만성적으로 노출된 *S. aureus*가 형태학적 변이를 일으킨 후 선택적으로 증식되는 특정생물형으로, 약화된 α -독소로 인한 세포 내 생존과 항생제 내성으로 강력한 치료에도 불구하고 지속성 또는 재발성 감염을 일으키고 있다. 국내에서는 2000년에 첫 예가 보고된 후 아직 보고된 예가 없는 바, 저자들은 고혈압과 당뇨로 인한 만성신부전증으로 AVF 수술을 받은 후 혈액 투석을 위해 입원 중 폐렴이 발생한 67세 남자의 객담에서 *S. aureus* SCVs를 분리하였기에 보고하였다. *S. aureus*, SCVs는 hemin, menadione, CO₂등에 의존성(auxotrophic)으로, 전자전달사슬의 이상으로 인하여 유발되며, 일반 배양에서는 잘 자라지 않거나 아주 작은 집락을 형성하고, 여러 가지 비전형적 형태 및 생화학적 소견을 보이므로 이들의 분리 및 동정에 어려움이 많다. 따라서 지속적이고 재발이 잦은 감염환자의 검체에서 균이 잘 자라지 않거나 비전형적인 소견을 보일 경우에는 SCVs감염의 가능성을 고려하여 합당한 조치를 취하여야 효과적인 치료지침을 세울 것으로 생각된다.

참 고 문 헌

1. McNamara PJ, Proctor RA. *Staphylococcus aureus* small colony variants, electron transport and persistent infections. *Int J Antimicrob Agents* 2000;14:117-22.
2. Proctor RA, Balwit JM, Vesga O. Variant subpopulations of *Staphylococcus aureus* as cause of persistent and recurrent infections. *Infectious Agents and Disease* 1994;3:

- 302-12.
3. Proctor RA, van Langevelde P, Kristjansson M., Maslow J.N, Arbeit RD. *Persistent and relapsing infections associated with small-colony variants of Staphylococcus aureus.* Clin Infect Dis 1995;20:95-102.
 4. von Eiff C, Bettin D, Proctor RA, Rolauffs B, Lindner N, Winkelmann W, et al. *Recovery of small colony variants of Staphylococcus aureus following gentamicin bead placement for osteomyelitis.* Clin Infect Dis 1997;25:1250-1.
 5. Spearman P, Lakey D, Jotte S, Chernowitz A, Claycomb S, Stratton C. *Sternoclavicular joint septic arthritis with small colony variant Staphylococcus aureus.* Diagn Microbiol Infect Dis 1996;26:13-5.
 6. Kahl B, Herrmann M, Everding AS, Koch HG, Becker K, Harms E, et al. *Persistent infection with small colony variant strains of Staphylococcus aureus in patients with cystic fibrosis.* J Infect Dis 1998;177:1023-9.
 7. von Eiff C, Becker K, Metze D, Lubritz G, Hockmann J, Schwarz T, et al. *Intracellular persistence of Staphylococcus aureus small-colony variants within keratinocytes: a cause for antibiotic treatment failure in a patient with Darier's disease.* Clin Infect Dis 2001;32:1643-7.
 8. von Eiff C, Becker K, Metze D, Lubritz G, Hockmann J, Schwarz T, et al. *Osteopetrosis, femoral fracture, and chronic osteomyelitis caused by Staphylococcus aureus small colony variants (SCV) treated by girdeystone resection-6-year follow-up.* Arch Orthop Trauma Surg 2002; 122:547-50.
 9. Seifert H, von Eiff C, Fatkenheuer G. *Fatal case due to methicillin-Resistant Staphylococcus aureus small colony variants in an AIDS patient.* Emerg Infect Dis 1999;5: 450-3.
 10. Abele-Horn M, Schupfner B, Emmerling P, Waldner H, Goring H. *Persistent wound infection after herniotomy associated with small-colony variants of Staphylococcus aureus.* Infection 2000;28:53-4.
 11. 박준완, 최혜심, 김의중. 지속성 재발성 방광결석환자의 요검체에서 분리된 메티실린 내성 *Staphylococcus aureus* small colony variants 1예. 대한미생물학회지 2000;3:75-8.
 12. Musher DM, Baughn RE, Templeton GB, Minuth JN. *Emergence of variant forms of Staphylococcus aureus after exposure to gentamicin and infectivity of the variants in experimental animals.* J Infect Dis 1977;136:360-9.
 13. Pelletier LL Jr, Richardson M, Feist M. *Virulent gentamicin-induced small colony variants of Staphylococcus aureus.* J Lab Clin Med 1979 ;94:324-34.
 14. Balwit JM, van Langevelde P, Vann JM, Proctor RA. *Gentamicin-resistant menadione and hemin auxotrophic Staphylococcus aureus persist within cultured endothelial cells.* J Infect Dis 1994;170:1033-7.
 15. Mitsuyama J, Yamada H, Maehana J, Fukuda Y, Kurose S, Minami S, et al. *Characteristics of quinolone-induced small colony variants in Staphylococcus aureus.* J Antimicrob Chemother 1997;39:697-705.
 16. von Eiff C, Heilmann C, Proctor RA, Woltz C, Peters G, Gotz F. *A site-directed Staphylococcus aureus hemB mutant is a small colony variant which persists intracellularly* J Bacteriol 1997;179:4706-12.
 17. von Eiff C, Vaudaux P, Kahl BC, Lew D, Emler S, Schmidt A, et al. *Bloodstream infections caused by small-colony variants of coagulase-negative staphylococci following pacemaker implantation.* Clin Infect Dis 1999;29: 932-4.
 18. Roggenkamp A, Sing A, Hornef M, Brunner U, Autenrieth IB, Heesemann J. *Chronic prosthetic hip infection caused by a small-colony variant of Escherichia coli.* J Clin Microbiol 1998;36:2530-4.
 19. Haussler S, Tummler B, Weissbrodt H, Rohde M, Steinmetz I. *Small colony variants of Pseudomonas aeruginosa in cystic fibrosis.* Clin Infect Dis 1999;29:621-5.